

Postęp Biologiczny w Produkcji Roślinnej (2022)

Zadanie 2: Septorioza paskowana liści pszenicy (*Zymoseptoria tritici*): struktura populacji grzyba, identyfikacja loci odporności w pszenicy oraz wprowadzenie efektywnych genów odporności do materiałów hodowlanych

KIEROWNIK ZADANIA

Paweł Czembor, dr hab., prof. Instytutu
p.czembor@ihar.edu.pl

Okres realizacji zadania: 2022 r.

WYKONAWCY

Dariusz Mańkowski, dr hab., prof. Instytutu
Magdalena Radecka-Janusik, dr, adiunkt
Urszula Piechota, dr, adiunkt
Piotr Słowacki, mgr inż., asystent
Grzegorz Czajowski, dr inż., inżynier
Dominika Piaskowska, mgr, inżynier

CELE PROJEKTU W 2022 r.

	CEL	CZY CEL ZOSTAŁ ZREALIZOWANY
1	Analiza struktury populacji (w tym zdolności chorobotwórczych) grzyba <i>Zymoseptoria tritici</i> na pszenicy	TAK
2	Identyfikacja loci odporności na STB wśród odmian miejscowych i historycznych pszenicy	TAK
3	Wprowadzenie efektywnych loci odporności na STB do materiałów hodowlanych pszenicy metodą krzyżowań wspomaganych markerami molekularnymi	TAK

MATERIAŁY I METODY

TEMAT BADAWCZY 1: Analiza wirulencji izolatów *Z. tritici*

1. Zbiór liści pszenicy z objawami STB w różnych miejscowościach w Polsce
2. Uzyskanie jednopiknoidalnych izolatów *Z. tritici*
3. Siew zestawu różnicującego – 23 obiekty ze znanymi loci odporności na STB + 2 podatne wzorce
4. Zakażenie – oprysk zawiesiną o stężeniu ok. 15×10^6 zarodników/ml
5. Ocena – określenie procentu pokrycia powierzchni liścia nekrozą (NEC) oraz owocnikami grzyba (PYC)

TEMAT BADAWCZY 2: Mapowanie Asocjacyjne (MA): fenotypowanie reakcji na zakażenie *Z. tritici* co najmniej 188 obiektów stadium rośliny dorosłej – zakażenie i ocena odporności pierwszego doświadczenia polowego oraz założenie drugiego doświadczenia polowego

1. Zakażenie – oprysk mieszaniną izolatów (IPO92006, IPO86036, St1-03 i St20-43-1) – stężenie ok. 15×10^6 zarodników/ml
2. Ocena – określenie procentu pokrycia powierzchni liścia nekrozą (NEC) oraz owocnikami grzyba (PYC)
3. Założenie kolejnego doświadczenia polowego

TEMAT BADAWCZY 3: Marker Asisted Backcrossing (MAB): analiza molekularna markerów specyficznych dla wprowadzanych genów odporności (FS) oraz tła genetycznego (BS) dla F_1BC_1 oraz uzyskanie F_1BC_2

1. Izolacja DNA z siewek
2. Analiza polimorfizmu markerów SSR i SNP
3. Selekcja i wybór roślin do krzyżowań
4. Krzyżowania i uzyskanie pokolenia F_1BC_2

WYNIKI I WNIOSKI

TEMAT BADAWCZY 1: Analiza wirulencji izolatów *Z. tritici*

W ramach tematu przetestowano 10 izolatów *Z. tritici* zebranych w następujących miejscowościach w Polsce: **Radzików** (mazowieckie), **Dębina** (pomorskie), **Ułhówek** (lubelskie), **Modzurów** (śląskie), **Smolice** (wielkopolskie), **Skołoszów** (podkarpackie), **Choryń** (wielkopolskie).

St-8 (Choryń) najbardziej wirulentny izolat pod względem obu parametrów chorobowych (NEC: 1,0% - 87,9%; PYC: 0% - 40,5%)

St-9 (Radzików) najmniej wirulentny izolat pod względem obu parametrów chorobowych (NEC: 1,7% - 43,0%; PYC: 0% - 1,5%)

W ramach tematu badawczego wyłoniono cztery odmiany/linie najbardziej odporne na zakażenie testowanymi w tym roku izolatami *Z. tritici* oraz trzy odmiany/linie najbardziej podatne.

OBIEKTY ODPORNE:	M3 synthetic	<i>Stb16q, Stb17</i>	NEC: 0,6% - 1,8%	PYC: 0% - 0,1%
	Kaukaz-K4500	<i>Stb6, Stb7, Stb10, Stb12</i>	NEC: 2,7% - 10,5%	PYC: 0% - 0,5%
	Salamouni	<i>Stb13, Stb14</i>	NEC: 2,8% - 16,4%	PYC: 0% - 1,9%
	Cs Synthetic (6x)7D	<i>Stb5, Stb6</i>	NEC: 3,2% - 10,9%	PYC: 0% - 1,1%
OBIEKTY PODATNE:	Estanzuela Federal	<i>Stb7</i>	NEC: 18,9% - 75,2%	PYC: 0,5% - 40,5%
	Chinese Spring	<i>Stb5, Stb5, QTL – 7D</i>	NEC: 9,5% - 74,6%	PYC: 0,8% - 32,3%
	Bulgaria88	<i>Stb1, Stb6</i>	NEC: 10,3% - 88,0%	PYC: 0% - 24,8%

TEMAT BADAWCZY 1: Analiza wirulencji izolatów *Z. tritici*

 Średni procent pokrycia powierzchni liścia nekrozą (NEC) i piknidiami (PYC) dla 10 izolatów *Z. tritici*.

Na zielono zaznaczono obiekty najbardziej odporne, na pomarańczowo obiekty najbardziej podatne.

%NEC	St-9	St-3	St-7	St-10	St-2	St-1	St-6	St-4	St-5	St-8	%PYC	St-9	St-3	St-7	St-10	St-1	St-6	St-2	St-5	St-4	St-8	
M3 synthetic (W-7976)	1,8	0,6	0,9	1,0	0,8	1,7	1,1	1,2	1,0	1,0	M3 synthetic (W-7976)	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Kavkaz-K4500	4,1	2,7	4,0	5,9	5,0	3,8	4,8	7,4	7,2	10,5	Kavkaz-K4500	0,5	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,2	0,0	0,0
Cs Synthetic (6x)7D	3,2	6,7	4,2	7,0	7,3	6,6	5,5	5,1	10,9	9,7	Cs Synthetic (6x)7D	0,0	0,0	0,0	0,5	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	1,1
Salamouni	2,8	4,1	3,3	5,1	7,6	4,1	7,4	16,4	9,7	12,1	Salamouni	0,0	0,3	0,7	0,0	0,0	0,0	0,4	0,1	1,9	0,9	0,9
TE9111	10,0	3,5	3,6	11,2	2,0	9,1	17,8	16,2	8,5	8,4	Veranopolis	0,1	0,0	0,0	0,0	4,4	1,3	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1
Veranopolis	4,4	7,0	4,2	3,7	4,5	27,3	19,8	5,3	16,2	10,7	Balance	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	1,8	2,7	1,9	1,9
Israel493	4,5	1,9	5,0	8,8	9,3	10,0	8,1	14,9	11,5	30,5	TE9111	0,0	0,1	0,1	4,3	0,0	2,2	0,0	0,0	3,5	0,0	0,0
Florett	2,2	8,7	2,4	5,3	4,2	16,9	12,1	9,4	18,1	32,4	Israel493	0,0	0,0	0,5	0,3	0,1	0,0	0,0	0,0	2,2	7,7	7,7
Balance	5,0	4,8	3,6	5,7	5,0	9,2	11,5	19,8	33,2	32,0	Florett	0,0	0,5	0,1	0,0	1,6	0,5	0,4	0,1	5,1	5,4	5,4
Tadinia	2,3	1,9	6,8	3,9	12,3	12,6	20,5	33,0	16,5	63,6	M6 synthetic (W-7984)	0,0	1,1	0,0	2,1	6,4	2,1	0,1	3,1	0,0	2,8	2,8
M6 synthetic (W-7984)	6,0	5,3	12,2	31,7	7,4	27,9	31,1	3,4	22,3	39,3	Arina	0,0	0,6	0,4	0,7	0,0	1,3	2,4	0,8	11,3	9,5	9,5
Arina	10,1	6,7	10,2	12,3	13,2	8,7	13,3	31,3	31,7	49,5	Apache	1,0	0,6	0,2	2,0	2,8	1,0	5,0	2,8	6,5	8,4	8,4
Liwilla	6,8	2,4	10,2	13,8	11,2	19,1	7,9	38,4	15,9	65,7	Tuareg	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,3	1,6	1,6	9,8	26,2	26,2
Tuareg	3,7	3,9	2,6	8,1	10,1	6,8	35,0	29,7	34,2	64,7	Begra	0,0	0,2	0,1	3,2	0,1	0,1	1,9	8,0	3,5	23,1	23,1
Mazurka	11,7	4,8	10,8	22,4	8,1	25,9	26,5	41,9	33,3	73,1	Liwilla	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,2	1,1	19,7	24,6	24,6
Solitar	11,4	15,8	5,6	17,1	13,9	41,0	42,7	27,2	35,2	72,6	Mazurka	0,0	0,1	2,7	0,0	1,6	0,4	0,1	1,1	9,8	36,4	36,4
Flame	10,5	3,9	24,0	11,1	28,2	26,1	9,2	53,4	65,8	69,6	Bulgaria88	0,0	3,4	6,7	0,0	9,5	0,3	6,3	2,0	1,8	24,8	24,8
Riband	19,5	22,7	8,7	24,3	19,8	34,8	33,9	42,2	42,9	56,6	Tadinia	0,3	0,0	2,6	0,1	2,4	3,1	0,3	1,3	17,8	30,7	30,7
Chinese Spring	9,5	9,6	12,1	23,7	16,5	31,3	45,1	42,4	62,0	74,6	Flame	0,5	0,1	0,1	1,4	1,8	0,0	3,7	11,7	16,8	24,9	24,9
Begra	15,9	9,5	20,6	29,7	35,7	22,8	45,6	42,9	59,5	87,9	Riband	0,7	4,8	1,3	1,4	1,9	1,9	5,6	8,1	20,4	16,0	16,0
Courtot	23,2	18,0	31,0	26,8	67,6	45,9	47,8	50,3	75,2	20,8	Solitar	0,3	4,1	0,2	1,1	0,1	9,8	2,2	11,5	8,7	31,1	31,1
Estanzuela Federal	18,9	21,9	36,5	38,8	26,6	35,1	46,4	62,6	50,1	75,2	Courtot	1,0	1,3	3,0	5,0	12,2	9,9	13,5	17,2	12,0	0,7	0,7
Apache	23,7	19,3	27,8	20,1	43,6	46,1	45,6	50,5	64,1	73,2	Chinese Spring	0,8	1,9	3,6	6,8	3,5	15,1	3,3	30,6	19,1	32,3	32,3
Bulgaria88	30,9	50,4	27,6	10,3	67,3	45,6	18,4	50,2	80,5	71,0	Estanzuela Federal	1,2	0,5	9,0	10,6	3,2	13,9	2,6	16,4	20,5	40,5	40,5
Taichung29	43,0	58,7	48,8	50,4	77,6	39,8	52,2	88,0	87,5	83,1	Taichung29	1,5	11,3	2,7	8,2	6,0	4,1	24,7	22,2	39,1	30,5	30,5

WYNIKI I WNIOSKI

TEMAT BADAWCZY 2: Mapowanie Asocjacyjne (MA): fenotypowanie reakcji na zakażenie *Z. tritici* co najmniej 188 obiektów stadium rośliny dorosłej – zakażenie i ocena odporności pierwszego doświadczenia polowego oraz założenie drugiego doświadczenia polowego.

Wyniki uzyskane dla obu parametrów chorobowych charakteryzowały się dużą zmiennością, ponieważ dla procentu powierzchni liścia pokrytego nekrozą mieściły się w zakresie 1,4% – 97,3%, natomiast dla procentu powierzchni liścia pokrytego piknidiami 0% – 31,9%. Przy zastosowaniu analizy skupień (AHC) wykonano grupowanie odmian wykazujących podobny poziom reakcji. W wyniku analizy otrzymano 3 grupy obiektów.

Grupa	Pokrycie liścia nekrozą (NEC)		Pokrycie liścia piknidiami (PYC)		Liczebność
	Minimum	Maksimum	Minimum	Maksimum	
1	1,4%	29,7%	0%	10,0%	101
2	67,2%	97,3%	0%	30,3%	56
3	33,2%	71,3%	0%	31,9%	43

WNIOSKI: Zastosowanie mieszaniny izolatów o szerokim spektrum wirulencji pozwala przypuszczać, że odmiany/linie, które wykazały się silną reakcją odpornościową (grupa 1) w tegorocznym doświadczeniu posiadają w swoim genomie potencjalnie nowe loci odporności na STB. Próba identyfikacji tych loci będzie podjęta na dalszych etapach realizacji tematu.

WYNIKI I WNIOSKI

TEMAT BADAWCZY 3: Marker Asisted Backcrossing (MAB): analiza molekularna markerów specyficznych dla wprowadzanych genów odporności (FS) oraz tła genetycznego (BS) dla F_1BC_1 oraz uzyskanie F_1BC_2 .

Wynik selekcji dla dwóch kombinacji krzyżówkowych (pokolenie F_1BC_1) przedstawiono w tabeli. W nawiasach podano liczbę obiektów posiadających allel rodzica dawcy w loci testowanych markerów.

	Mandub × Arkadia	M3 Synthetic × Patras
Markery SSR	wms161 (91)	barc125 (57)
	wmc788 (101)	hbg247 (130)
	barc121 (97)	gwm617 (161)
	wms443 (94)	
	barc271 (98)	
Markery SNP		STB_DART_8 (80)

WNIOSKI:

1. 8 z 20 markerów SSR przetestowanych w ramach niniejszego tematu badawczego okazało się być informatywnych i mogło posłużyć do selekcji pokolenia F_1BC_1 .
2. Tylko 1 z 50 przetestowanych markerów SNP okazał się być informatywny i mógł posłużyć do selekcji pokolenia F_1BC_1 .
3. Metoda wykorzystania markerów SNP w selekcji wspomaganej markerami molekularnymi wymaga jeszcze dopracowania.

MIERNIKI

Lp.	Miernik	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana	Stopień realizacji miernika
temat badawczy 1				
1.1	Analiza wirulencji izolatów <i>Z. tritici</i>	co najmniej 10 izolatów	10	1
temat badawczy 2				
2.1	Pierwsze doświadczenie polowe STB – liczba ocenionych odmian/linii	co najmniej 188	200	1
temat badawczy 3				
3.1	Wykonanie selekcji molekularnej pokolenia F ₁ BC ₁	dwie kombinacje rodziców	dwie kombinacje rodziców	1
3.2	Wykonanie krzyżowań dla pszenicy — uzyskanie F ₁ BC ₂	dwie kombinacje rodziców	dwie kombinacje rodziców	1
			ŚREDNIA	1
			% REALIZACJI ZADANIA	100%